ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN--POLONIA
VOL. VI, 13. SECTIO D 1951

Z Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akad. Med. w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. doc. dr med. Stanisław Grzycki

Stanisław GRZYCKI i Józef STASZYC

System sferoidalny i pole Golgiego w komórkach zwojowych ślimaków

Сфероидальная система и зона Голджи в ганглиозных клетках улиток

On the spheroidal system and the Golgi zone in the ganglion cells of the snails

Brambell Rogers i Gatenby Bronte (1924) opisując aparat Golgiego w neuronach zwojów mózgowych u *Helix aspersa* zwrócili uwagę, że w małych komórkach znajduje się on w okolicy sfery archoplazmatycznej, natomiast w dużych rozsypany jest dokoła jądra, przy czym jest on zwykle większy i ilość jego strukturalnych ziarenek obfitsza. Rau Subba i Ludford (1925) zaś badając komórki zwojowe w różnych stadiach rozwojowych doszli do wniosku, że umiejscowienie, forma i struktura aparatu Golgiego zależy od przemiany materii komórek, a Estermann i Gitlitz (1927) twierdzą nawet, że aparat Golgiego pozostaje w ścisłym związku z tworzeniem i różnicowaniem się komórki nerwowej. W komórkach młodych bowiem jest on jasny i wyraźny, w komórkach starych mało zróżnicowany.. Największe zmiany morfotyczne w aparacie Golgiego mogli obserwować w pierwszych tygodniach życia komórki nerwowej. Podobnie i Covell (1927) porównując powierzchnię i objętość komórki zwojowej z powierzchnią i objętością aparatu Golgiego wyraża pogląd, że w małych komórkach jest on większy, a stosunek jego do jądra jest bezpośredni.

Barwienie przyżyciowe czerwienią obojętną komórek nerwowych przez C o v e l l a i S c o t t a (1928) zwróciło uwagę na obecność ziarenek i wodniczek, które wykazywały tak pod względem umiejscowienia, jak i formy oraz struktury wyraźne podobieństwo do aparatu Golgiego. Miały one nawet powinowactwo do czterotlenku osmu, a po odpowiednim utrwaleniu również i do soli srebrowych. B e a m s (1931) jednak nie utożsamia ani ziarenek, ani wodniczek z aparatem Golgiego, mimo tego wydaje mu się, że są one z aparatem związane i od niego zależne. N a s s o n o w (1923, 1926) zaś rozpatrując cykl wydzielniczy komórek gruczołowych uważa aparat Golgiego i przyżyciowo barwiące się wodniczki za stałą, czynną i żywą część składową cytoplazmy. Także P o l e n o w (1950) obserwując komórki nerwowe *nucleus magnocellularis praeopticus tuberis* i *nucleus lateralis tuberis* u *Cyprinus carpio* po utrwaleniu ich w płynie Bouina i zabarwieniu azanem według Heidenhaina, hematoksyliną żelazistą, eozyną, tioniną według metody Nissla, czterotlenkiem osmu według Kolatschewa i Nassonowa, i azotanem srebrowym według Golgiego i Deineki, doszedł do wniosku, że zmienność morfologiczna aparatu Golgiego jest zależna od procesu wydzielniczego komórki, i że bezbarwne wodniczki, które występują w strefie przyjądrowej komórek nerwowych okazują łączność z aparatem.

T h o m a s (1947, 1948) przeprowadził badania nad komórkami nerwowymi *postcerebrum* i *mesocerebrum* u ślimaka *Helix aspersa*. Żywe komórki oglądał w ciemnym polu i mikroskopie fazowo-kontrastowym, stosując przyżyciowe barwienie czerwienią obojętną, błękitem metylenu, błękitem Nilu, oraz zielenią Janusową B. Preparaty utrwalone w płynach Zenker-formolu, Carnoy, dwuchromianie, osmie, Schridde'a i Bensley'a, barwił kwaśną hemateiną według Bakera, kwaśną fuksyną według Altmanna, azanem według Heidenhaina i Massona, według metody Mann-Kopscha, Bakera i sudanem czarnym B według własnej modyfikacji. Po cytoplazmie obserwowanych neuronów rozsypane były 1) ciałka sferoidalne, 2) ziarenka układające się w łańcuszki, 3 kwasochłonne ziarnistości, które uważał za **prosekret** neurohormonu, oraz 4) zasadochłonne „microneurosoma", z których prawdopodobnie tworzyła się substancja Nissla.

Cain (1948) natomiast pracując nad komórkami nerwowymi zwojów mózgowych u *Helix, Planorbis* i *Limnaea* po użyciu odpowiednich metod utrwalania i barwienia podał wyniki badań histochemicznych nad ciałkami sferoidalnymi, które, jak okazało się na podstawie tych badań, zbudowane były z fosfolipinów *(Externum)* i carotenoidów *(Internum)*. Umiejscowienie i struktura ciał sferoidalnych upoważniły Cain'a, oraz Hirsch'a (1939), Sluiter'a (1948), Kedrowsky'ego (1947), i wielu innych badaczy do uznania tych ciał za czynne kompleksy aparatu Golgiego.

Z ciałami sferoidalnymi w komórkach nerwowych *pars intercerebralis* u pszczół spotykali się także Lewynson i Platonowa (1948). Widzieli oni nawet ścisły związek pomiędzy układem Golgiego a ziarenkami wydzieliny. Podobnie i w naszej pracy (1951) obserwując wpływ temperatury na układ sferoidalny Golgi—Thomasa i ziarenka neurosekrecyjne w komórkach nerwowych zwojów mózgowych ślimaków *Limnaea stagnalis* zauważyliśmy, że proces neurosekrecji jest ściśle związany z fazami rytmu pracy aparatu Golgiego. Elementy Golgiego oraz ziarenka i wodniczki neurosekrecyjne będąc wyrazem przemian odbywających się w cytoplazmie i jądrze, mogły przechodzić jedne w drugie, przy czym i jedne i drugie stanowiły nierozłączalne fazy rytmu pracy komórki.

Nie brak również zapatrywań, że główną rolę w procesie neurosekrecji odgrywa substancja zasadochłonna Nissla. Przedstawicielami tego poglądu są Scharrer E., Scharrer B., Lennette, Palay i Nilges (1937—1947), którzy badali komórki nerwowe *nucleus praeopticus* i *nucleus lateralis tuberis* u ryb *Ameiurus nebulosus, Noturus flavus, Fundulus heteroclitus, Centropristes striatus* i *Tautoga onitis*, oraz komórki *nucleus praeopticus ,supraopticus* i *paraventricularis* u *Bufo terrestris, Bufo americana, Lapemis hardwickii.* Po zabarwieniu komórek trójbarwną metodą Massona w modyfikacji Foota stwierdzili obecność kwasochłonnych ziarenek umiejscowionych głównie na obwodzie komórki i pozostających w czynnościowym stosunku do ciałek zasadochłonnych Nissla. Zagadnienie to jest w dalszym ciągu dyskutowane i większość badaczy przypisuje raczej aparatowi Golgiego główną rolę w produkcji wydzieliny.

Przeprowadzając badania porównawcze nad żywymi i utrwalonymi neuronami zwojów mózgowych u *Limnaea* i *Planorbis* chcieliśmy odpowiedzieć na pytania: czy strefa dynamiczna cytoplazmy odpowiada

polu Golgiego (Golgi Feld Bowen—Hirsch), oraz czy ciałka sferoidalne tworzą pole dynamiczne względnie czy są one wytworem tego pola. Wydaje się nam bowiem, że uzyskanie odpowiedzi na zajmujące nas zagadnienia potrafi rzucić pewne światło na proces neurosekrecji obserwowanych komórek zwojowych.

Materiał doświadczalny i metodyka badań

Badania cytologiczne przeprowadzone były nad żywymi i utrwalonymi, dużymi motorycznymi komórkami nerwowymi Hanströma, które znajdowały się w zwojach mózgowych *(ganglia cerebralia)* ślimaków *Limnaea stagnalis* L. i *Planorbis corneus* L.

Komórki żywe izolowano w 0,7% wodnym roztworze chlorku sodowego, do którego dodawaliśmy 10% chlorku wapnia w ilości 0,2%, po czym barwiliśmy je 0,0001% trójmetylem tioniny otrzymanym według przepisu Lasfargues i Di Fine (1950). Barwiliśmy przez 2—10 minut, postępując podobnie, jak w poprzednich badaniach nad komórkami *Helix pomatia* L. i *Limnaea stagnalis* L. (Grzycki, 1951).

Komórki nerwowe podbarwiano także przyżyciowo wstrzykując ślimakom podskórnie, w okolicę głowy, jednorazowo w ilości $1/2$ ccm czerwień obojętną rozpuszczoną w roztworze fizjologicznym 1:100.000, oraz błękit metylenowy w roztworze fizjologicznym 1:100.000. Komórki izolowano dopiero po 20—30 minutach i oglądano w płynie fizjologicznym.

Do utrwalenia zwojów mózgowych użyto płynów Carnoy i formolu obojętnego 1:9. Skrawki mikrotomowe, grubości 20—30 mikronów barwiono trójbarwną metodą Massona, Wallarta i Houette, oraz według Mallory'ego. System Golgiego wyczerniano według uranowo-srebrowej metody Cajala.

Badania własne

W *postcerebrum, lobus dorsalis* i *lobus lateralis* zwojów mózgowych u *Limnaea* i *Planorbis* znajdują się duże, jednobiegunowe komórki, które Hanström nazywa neuronami motorycznymi. Wypustki jednych neuronów przechodzą przez *commissura centralis* do zwojów mózgowych strony przeciwnej, drugich natomiast do zwojów tej samej

strony i do czułków, a innych zaś do *ganglia pleuralia* i *ganglia pedalia*. Obserwacji cytologicznych dokonaliśmy właśnie nad komórkami Hanströma ze względu na ich wielkość, łatwość izolowania i mikroskopowego oglądania, oraz ze względu na to, że w cytoplazmie ich można było zabarwić według Heidenhaina, Massona, Mallory'ego, Wallarta i Houette, ziarenka i wodniczki neurowydzieliny oraz ciałka sferoidalne Thomasa tworzące system Golgiego.

I.

Żywe, izolowane komórki nerwowe *Limnaea* i *Planorbis* barwiono 0,0001% trójmetylem tioniny. Odczyn barwny zawsze wykreślał wyraźne pole, które umiejscowione było przeważnie na aksonowym biegunie komórki, albo otaczało wąskim paskiem obwód jądra. Były więc widoczne, podobnie jak i w poprzednich badaniach naszych (1951), dwa typy pola Golgiego: przyjądrowe i biegunowe. U *Planorbis* częściej spotykaliśmy pole przyjądrowe otaczające dokoła pęcherzyk jądra, podczas gdy u *Limnaea* strefa przyjądrowa miała wygląd półksiężycowaty i nasadzona była na aksonowy biegun jądra. Mitochondria, jądro, jąderko i inne struktury cytoplazmatyczne były niezabarwione.

Wielkość pola zabarwionego trójmetylem tioniny na kolor niebiesko-różowy w różnych komórkach motorycznych była różna. Szczególną zmiennością wielkości odznaczała się strefa biegunowa, mogła ona bowiem w jednych komórkach mieć wygląd wąskiego, krótszego lub dłuższego paska przylegającego do powierzchni zewnętrznej jądra, w drugich zaś wypełniać całkowicie względnie prawie całkowicie przestrzeń cytoplazmy od bieguna aksonowego jądra do szczytu stożka wypustki neuronu. Te różne wymiary wielkości pola czynnościowego mogą wskazywać z jednej strony na zdolność wzrostu, a tym samym na możność zwiększania swojej powierzchni i objętości, a z drugiej strony na zależność wielkości pola Golgiego od stanu czynnościowego komórki. Wielkość pola Golgiego, jak to już zresztą w naszych poprzednich pracach podkreślaliśmy, może być prawdopodobnie miernikiem wartości wydzielniczej komórki, a nawet może być wskaźnikiem dynamizmu przemian toczących się w jądrowo-cytoplazmatycznej strefie Golgiego.

Niebiesko-różowo zabarwione pole Golgiego utworzone było z drobnych ziarenek, z których jedne miały wygląd połyskujących, inne zaś —

matowych. Ziarenka różniły się pomiędzy sobą wielkością, można bowiem było znaleźć pośród nich ziarenka średnio wielkie i ziarenka duże przypominające wyglądem wodniczki. Te ostatnie nawet barwiły się trójmetylem tioniny o wiele słabiej w porównaniu z ziarenkami otaczającymi. Ilość wodniczek pozostawała przeważnie w stosunku odwrotnie proporcjonalnym do ilości ziarenek, mimo tego jednak zawsze najwięcej wodniczek można było obserwować u *Limnaea* w stożku aksonowym komórki, a zatem w strefie biegunowej pola Golgiego. U *Planorbis* natomiast przyjądrowe pole Golgiego zbudowane było tylko z ziarenek, a zauważone w kilkunastu neuronach pojedyncze wodniczki zawsze umiejscowione były prawie dokładnie przy biegunie aksonowym pęcherzyka jądrowego.

Ziarenka i wodniczki znajdowały się w ciągłym ruchu, nie okazywały zdolności do łączenia się, a różnice w przejrzystości ich zabarwienia były prawdopodobnie spowodowane zmiennością procesów chemicznych odbywających się w nich i na ich powierzchni, względnie procesów w wyniku których one powstawały. Ilość i wielkość ziarenek i wodniczek, a przede wszystkim stosunek jednych do drugich, jak wydawało nam się, mogły być ocenami szybkości i wartości czynności produkcyjnej komórki nerwowej.

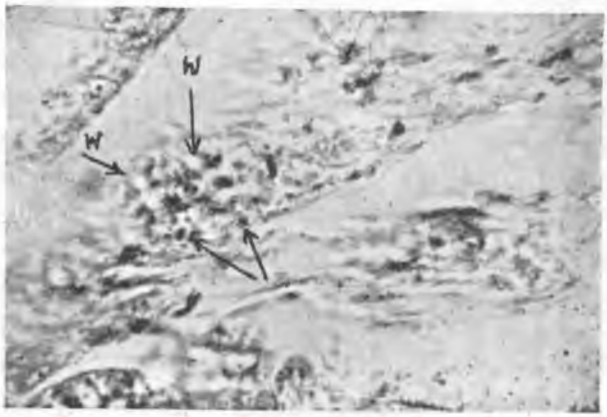
II.

Ślimakom *Limnaea* i *Planorbis* wstrzykiwano podskórnie w okolicę głowy $1/2$ ccm czerwieni obojętnej w roztworze fizjologicznym 1:100.000, albo $1/2$ ccm błękitu metylenowego również w roztworze 1:100.000. Po 20—30 minutach izolowano komórki nerwowe ze zwojów mózgowych i umieszczano w płynie fizjologicznym o składzie: 0,7% wodny roztwór chlorku sodowego z dodatkiem 10% chlorku wapnia w ilości 0,2%. Preparaty oglądano natychmiast po sporządzeniu.

Czerwień obojętna

Cytoplazma, jądro i jąderko nie zabarwione. W cytoplazmie jednak widoczne ceglasto-czerwone struktury zgrupowane przeważnie w stożku aksonowym, a w niektórych neuronach także w strefie przyjądrowej U *Limnaea* zabarwionych elementów cytoplazmatycznych było więcej w porównaniu z *Planorbis*. W komórkach nerwowych, w których stopień zabarwienia elementów był wyraźniejszy, można się było przekonać, że jedne z nich miały wygląd ziarenek, drugie zaś ciałek sferoidalnych.

W ciałkach sferoidalnych tylko *Externum* było zabarwione, wodniczka wewnętrzna natomiast albo była niezabarwiona, albo miała lekki odcień czerwonawy. Grube otoczki zewnętrzne, jak zauważyliśmy, utworzone były z drobniutkich barwikochłonnych ziarenek. (Mikrofot. Nr 1).



Mikrofotografia 1.

Umiejscowienie i wielkość zajmowanej powierzchni przez ziarenka i ciałka sferoidalne odpowiadały umiejscowieniu i wielkości strefy czynnościowej wykazanej trójmetylem tioniny. Ciałka sferoidalne również kształtem i średnicą upodabniały się do barwikochłonnych ziarenek i wodniczek neurosekrecyjnych. Być więc może, że związek topograficzny i morfologiczny pomiędzy jednymi i drugimi wskazuje równocześnie na możność przekształcania się jednych w drugie, a tym samym określa stosunek fizjologiczny nie tylko samych elementów, ale także strefy, w której one się znajdują. Ze względu na bardzo ścisłe powiązanie elementów Golgiego i neurosekrecyjnych z polem czynnościowym cytoplazmy można sądzić, że elementy te nie tylko tworzą pole czynnościowe, ale są nawet wytworem tego pola. Pole czynnościowe stanowi zatem w cytoplazmie strefę dynamiczną, w której odbywają się procesy syntezy i produkcji. Wielkość strefy dynamicznej była w każdej komórce nerwowej inna, najprawdopodobniej uzależniona od fazy pracy komórki.

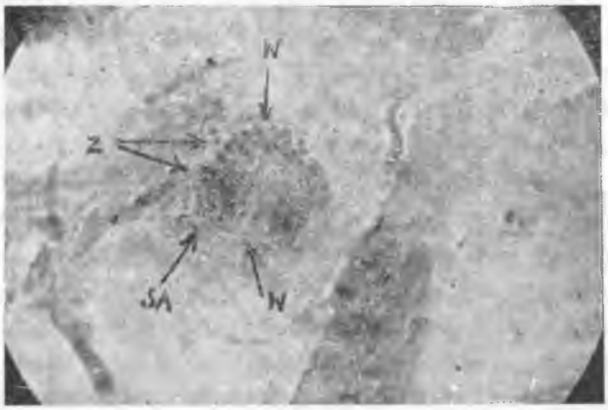
Błękit metylenowy

Barwik ten, jeśli działał na komórki nerwowe przyżyciowo przez krótki okres czasu, najwyżej 30 minut, okazywał powinowactwo wyłącznie do struktur cytoplazmatycznych podobnych do elementów Golgi—Thomasa, a ich umiejscowienie, ilość i wielkość odpowiadały obrazom zanotowanym po użyciu czerwieni obojętnej. Otoczka zewnętrzna ciałek sferoidalnych zwykle była gruba, ciemnoniebieskiego koloru i przylegała do niezabarwionej wodniczki wewnętrznej. Wodniczki duże prawie nigdy nie posiadały jednostajnej pierścieniowatej otoczki, zwykle widoczne były mniejsze lub większe przerwy w ciągłości, a najczęściej nawet zamiast otoczki znajdowało się tylko kilka grubych, ciemnych ziarenek. Przedłużenie czasu barwienia od 1—2 godzin, oraz zwiększenie stężenia roztworu barwika (np. 1:20.000) powodowało jednostajne zabarwienie cytoplazmy i jądra na kolor niebieski, przy czym struktury cytoplazmatyczne albo niewiele tylko różniły się zabarwieniem od otoczenia, albo były zupełnie niedostrzegalne.

Przeglądając preparaty po podbarwieniu błękitem metylenowym zastanawialiśmy się, czy ciemnoniebieskie drobne ziarenka, występujące w cytoplazmie obok ciałek sferoidalnych, są ciałkami Golgiego, czy ziarenkami neurosekrecyjnymi opisywanymi przez Scharrer'a, Lewynsona i innych. Przeprowadzenie ścisłego zróżnicowania jednych i drugich, bez poznania ich struktury chemicznej natrafiać będzie na poważne trudności. Ciałka Golgiego są początkiem systemu Golgi—Thomasa, a impregnując się czterotlenkiem osmu i solami srebra, albo absorbując czerwień obojętną, a nawet żelazo, jak podają Hirsch i Bretschneider, przedstawiają typ ziarenek o budowie lipoidalnej, które Ries nazwał lipochondriami, a Kedrowsky anabolitami. (Mikrofot. Nr 2).

Ziarenka neurosekrecyjne natomiast są kwasochłonne, małe, występują w znacznie większej ilości w porównaniu z ilością ciałek Golgiego, i raczej przypisuje się im własności dezoksyrybonukleoproteidów i rybonukleoproteidów, które według Casperssona i Bracheta posiadają zdolność metabolizmu. Jak wydaje nam się, zapatrywania Casperssona nie wykluczają możliwości metaplazji ziarenek neurosekrecyjnych w ciałka Golgiego. Jedne i drugie bowiem

będąc wyrazem przemian odbywających się w cytoplazmie i jądrze mogą przechodzić jedne w drugie i tworzyć właściwy cykl sekrecyjny komórki nerwowej.



Mikrofotografia 2.

III.

Odczynniki Cajala wyczerniły dokładnie elementy układu Golgiego w komórkach zwojowych, nie mniej jednak konieczne było wykonanie całego szeregu prób dla uzyskania optymalnej impregnacji. Okazało się bowiem, że czas działania 0,75% wodnego roztworu azotanu uranu, do którego dodano 30% alkoholu bezwodnego i 20% formaliny obojętnej (!), a następnie stężenie roztworu azotanu srebrowego (zwykle 1—1,5%) i wreszcie temperatura otoczenia, odgrywały bardzo ważną rolę w przebiegu procesu srebrzenia, a tym samym w wartości końcowych wyników. W miarę wzrostu temperatury otoczenia i płynu utrwalającego Cajala trzeba było skracać czas impregnacji nawet do 5 godzin (np. w temperaturze +37°C), a także czas utrwalania w 1% roztworze wodnym hydrochinonu z dodatkiem 15% formaliny obojętnej i 0,5% bezwodnego krystalicznego siarczynu sodowego *(natrium hyposulfurosum)*, musiał ulec skróceniu od 6—10 godz.

System Golgiego w komórkach zwojowych *Limnaea* i *Planorbis* utworzony był z czarnych, grubych ziarenek i ciałek sferoidalnych rozmieszczonych po największej części przy aksonowym biegunie jądra albo w strefie przyjądrowej. Wielkość ziarenek, a szczególnie ciałek

ulegała wyraźnym wahaniom, także grubość i ciągłość otoczki zewnętrznej (*Externum*) wykazywały różnice. Ilość kompleksów Thomasa w porównaniu z ilością ziarenek była mniejsza, a obecność form przejściowych, jak np. ziarenek dużych o słabej impregnacji i ziarenek, we wnętrzu których spostrzegaliśmy mniejsze lub większe wodniczki, mogła wskazywać na zdolność metaboliczną elementów Golgiego, która prawdopodobnie jest wyrazem przebiegu faz pracy komórki.

Pole Golgiego impregnowane uranowo-srebrową metodą Cajala w komórkach nerwowych badanych ślimaków, odpowiadało umiejscowieniem i wielkością strefie czynnościowej wykazywanej trójmetylem tioniny, czerwienią obojętną oraz błękitem metylenowym. Wyczernione w polu Golgiego ziarenka i kompleksy sferoidalne Thomasa mało tylko różniły się od ziarenek i kompleksów zabarwionych czerwienią obojętną albo błękitem metylenowym. Zasadniczych różnic dopatrywaliśmy się tylko w strukturze otoczki zewnętrznej, w której metodą Cajala nie można było wykazać ziarnistości widocznych po zabarwieniu błękitem metylenowym. Mimo tego były to te same elementy, które tworzą nie tylko pole Golgiego, ale także strefę czynnościową. Stwierdzenie tożsamości ziarenek i wodniczek po użyciu różnych metod barwnych, może być potwierdzeniem naszych poprzednich badań (1949), w których staraliśmy się udowodnić, że aparat Golgiego powstaje w wyniku przemian odbywających się w cytoplazmie, w miejscu najbardziej czynnym, zwanym strefą Golgiego albo strefą dynamiczną.

Omówienie wyników badań

Udział aparatu Golgiego w procesie wydzielniczym komórek gruczołowych nie ulega już dzisiaj żadnej wątpliwości. Badania Nassonowa, Beamsa, Aoyamy, Aunapa, Bowena, Chodnika, Lewera, Sluitera, Kedrowsky'ego i wielu innych wprowadzają nawet pojęcie faz rytmu pracy układu Golgiego, które łączą się, a nawet może i same tworzą cykl sekrecyjny komórki. W cyklu sekrecyjnym komórki biorą jednak udział nie tylko elementy układu Golgiego, ale także ziarenka mitochondrialne, protoplazma, jądro i prawdopodobnie jąderko.

Obserwacje ostatnich lat prowadzone przez Hirscha, Bakera, Kurkiewicza, Pawlikowskiego, Kedrowsky'ego, Thomasa, Scharrera E., Scharrera B.,

L e w y n s o n a, P o l e n o w a, P o l l i s t e r a, C a s p e r s s o n a, B r a c h e t a, D u s t i n a, G o m o r i e g o, E m m e l a, D e a n a, D e m p s e y, i innych zwróciły uwagę na aparat Golgiego, jako na strefę dynamiczną komórki i ośrodek czynności enzymatycznej, oraz na bezpośredni udział kwasów nukleinowych jądra i cytoplazmy w procesie wydzielniczym. Na szczególną uwagę zasługuje rola jaką spełnia kwas dezoksyrybonukleinowy, a przede wszystkim kwas rybonukleinowy w komórkach nerwowych i stosunek tych kwasów do ziarenek i wodniczek neurosekrecyjnych.

B r a c h e t, H y d e n, G e r s h i B o d i a n znaleźli duże ilości kwasu rybonukleinowego w tygroidzie Nissla, a T h o m a s, S c h a r r e r & C o, B e r t r a m, H y d e n i B a r r obserwowali spadek ilościowy i wartościowy tego kwasu w ciałkach Nissla po intensywnej pracy komórki. Natomiast na podstawie własnych badań doświadczalnych doszliśmy do przekonania, że w czasie wzmożonego procesu wydzielniczego neuronu odbywa się stopniowe rozładowywanie jądra z kwasu dezoksyrybonukleinowego. Rozładowanie jądra wyrażało się zmniejszeniem ilości chromocentrów, które oprócz tego, że miały wygląd grubych ziaren umiejscowionych tuż przy błonie jądrowej, okazywały słabszy odczyn barwny Schiffa -Feulgena i znikały prawie całkowicie w strefie przyjądrowej. Rozładowanie jądra prowadziło również do zmniejszenia ilości ziarenek neurosekrecyjnych, ziarenek Golgiego i ciałek sferoidalnych, czyli że stopień wypełnienia jądra kwasem DRN, oraz ilość ziarenek i wodniczek neurosekrecyjnych, a także ziarenek i kompleksów sferoidalnych Golgi—Thomasa może być oceną wartości czynności produkcyjnej komórek nerwowych i wskazuje na zdolność metabolizmu i metaplazji chromocentrów w ziarenka neurosekrecyjne, a następnie w ciałka Golgiego.

Podobną ocenę wartości produkcyjnej neuronów można było uzyskać i na podstawie naszych preparatów. Ciałka sferoidalne wybarwione przyżyciowo czerwienią obojętną i błękitem metylenowym, kształtem, średnicą i umiejscowieniem odpowiadały ziarenkom i wodniczkom neurosekrecyjnym. Związek zatem topograficzny i morfologiczny pomiędzy jednymi i drugimi nie zaprzeczał możliwości istnienia metabolizmu, a następnie metaplazji jednych w drugie. Także umiejscowienie i wielkość zajmowanej powierzchni przez elementy układu Golgiego odpowiadając umiejscowieniu i wielkości strefy czynnościowej wybarwionej trójmetylem tioniny, wskazywały, że elementy neurose-

krecyjne i Golgiego nie tylko tworzą pole czynnościowe, ale nawet są wytworem tego pola. Przemiany natomiast jakie w nich i pomiędzy nimi zachodzą mogą być dowodem, że pole czynnościowe cytoplazmy jest strefą dynamiczną, w której odbywają się procesy syntezy i produkcji.

Wnioski

Badania cytologiczne przeprowadzone były nad żywymi i utrwalonymi neuronami motorycznymi Hanströma w zwojach mózgowych *Limnaea* i *Planorbis*. Komórki żywe po wyizolowaniu barwiono trójmetylem tioniny według Lasfargues i Di Fine, a także podbarwiono przyżyciowo wstrzykując podskórnie ślimakom roztwory czerwieni obojętnej względnie błękitu metylenowego. Do utrwalania zwojów mózgowych użyto płynu Carnoy i formolu obojętnego 1:9. Skrawki mikrotomowe barwiono według Massona, Wallarta, Houette i Mallory'ego. Elementy układu Golgiego wyczerniono według uranowo-srebrowej metody Cajala.

Na podstawie naszych obserwacji można powiedzieć, że:

1) Ocenami szybkości i wartości czynności produkcyjnej komórki nerwowej są ilość, wielkość, struktura i rozmieszczenie ziarenek i wodniczek neurosekrecyjnych oraz ziarenek i kompleksów sferoidalnych Golgi—Thomasa, przy czym zauważono nie tylko metabolizm ziarenek neurosekrecyjnych, ale także metaplazję tych ziarenek w elementy Golgiego.
2) Wielkość pola czynnościowego jest miernikiem wartości wydzielniczej komórki, oraz wskaźnikiem dynamizmu przemian toczących się w jądrowo-cytoplazmatycznej strefie Golgiego.
3) Umiejscowienie i wielkość zajmowanej powierzchni przez ziarenka i ciałka sferoidalne Golgi—Thomasa odpowiadały umiejscowieniu i wielkości strefy czynnościowej wykazanej trójmetylem tioniny.
4) Dokładne powiązanie topograficzne i morfologiczne elementów Golgiego i elementów neurosekrecyjnych z polem czynnościowym cytoplazmy wskazywało, że elementy te nie tylko tworzą pole czynnościowe, ale prawdopodobnie są nawet wytworem tego pola. Pole czynnościowe więc może być równocześnie uważane za strefę dynamiczną cytoplazmy, w której odbywają się procesy syntezy i produkcji. Wielkość strefy dynamicznej, jak zauważono, była uzależniona od fazy pracy komórki.

PIŚMIENNICTWO

1. Aoyama F. — Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. Vol. 12, str. 179—206, 1931.
2. Aunap E. — Zeitschr. f. mikros. anat. Forsch. Vol. 24, str. 412—440, 1931.
3. Baker J. R. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 85, str. 1—72, 1944.
4. Baker J. R. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 87, str. 409—470, 1946.
5. Beams H. W. — Anat. Record: Vol. 44, str. 236—248, 1929.
6. Beams H. W. — Anat. Record. Vol. 49, str. 309—343, 1931.
7. Beams H. W. & King R. L. — Journ. Comp. Neurol. Vol. 61, str. 175—189, 1935.
8. Bertram E. & Barr M. — Nature. London. Vol. 163. str. 676—677, 1949.
9. Bowen R. H. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 70, str. 419—449, 1926.
10. Bowen R. H. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 70, str. 75—112, 1926.
11. Bowen R. H. — Anat. Record. Vol. 32. str. 151—194, 1926.
12. Brachet J. — Cpt. rend. Seans. Soc. Biol. Paris. Vol. 142, str. 1241—1254, 1948.
13. Brachet J. & Shaver J. R. — Stain. Technol. Vol. 23, str. 177—184, 1948.
14. Brambell F. W. Rogers & Gatenby J. Bronte — Sc. P. R. Dublin. Soc. Vol. 17, str. 275—280, 1924.
15. Brambell F. W. R. — Journ. of Physiol. Vol. 57, str. 415—423, 1923.
16. Cain A. J. — Quart. Journ. Micr. Scien. Vol. 89, str. 421—428, 1948.
17. Caspersson T. — Zeitschr. f. wissenschft. Mikrosk. u. f. mikr. Techn. Vol. 53, str. 403—419, 1936.
18. Caspersson T. — Skand. Arch. f. Physiol. Vol. 73. Suppl. 8, str. 1—151, 1936.
19. Caspersson T. & Schultz J. — Proc. Nat. Acad. Scien. Vol. 26, str. 507—509, 1940.
20. Covell W. P. — Anat. Record. Vol. 35, str. 149—163, 1927.
21. Covel W. P. & Scott G. H. — Anat. Record. Vol. 38, str. 377—399, 1928.
22. Chodnik K. S. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 89, str. 75—87, 1948.
23. Deane H. W. & Dempsey E. W. — Anat. Record. Vol. 93. str. 401—412, 1945.
24. Dustin P. — Symp. Soc. Exper. Biol. Cambridge. At the Univers. Press. No 1, str. 114—126, 1947.
25. Emmel V. M. — Anat. Record. Vol. 91, str. 39—45, 1945.
26. Estermann B. & Gitlitz A. J. — Anat. Record. Vol. 36, str 319—324, 1927.
27. Gomori G. — Proc. Soc. Exper. Biol. Medic. Vol. 48, str. 23—26. 1939.
28. Gomori G. — Proc. Soc. Exper. Biol. Medic. Vol. 72, str. 449—450, 1949.

29. Grzycki S. — Sprawozd. Pol. Akad. Umiej. Kraków. Vol. 50, str. 313—315, 1949.
30. Grzycki S. — Cpt. rend. M. Seanc. Class. D. Sc. Math. Nat. Nr 6—7, 1949.
31. Grzycki S. — Bull. d. l. Acad. Pol. Cl. Sc. Math. Natur. Ser. B, str. 289—302, 1949.
32. Grzycki S. — Annales Univers. M.C.S. Lublin, Sectio D, Vol. 5, 1950.
33. Grzycki S. — Bull. d. l. Acad. Polon. Cl. Sc. Math. Natur. Ser. B, 1951.
34. Grzycki S. — Bull. d. l. Acad. Polon. L. Sc. Math. Natur. Ser. B, 1951.
35. Grzycki S. — Annales Univers. M.C.S. Sec. D, Vol. VI, 1951.
36. Gersh I. & Bodian D. — Biol. Sympos. Vol. 10, str. 163, 1943.
37. Hirsch G. C. — Protoplasma Monograph. Vol. 18. Borntraeger. Berlin, 1939.
38. Kedrowsky B. W. — Usp. Sowr. Biol. Vol. 23, str. 375—404, 1947.
39. Kedrowsky B. W. & Swinkina A. A. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 60, str. 127—128, 1948.
40. Kedrowsky B. W. & Truchaczewa K. P. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 60, str. 449—452, 1948.
41. Kedrowsky B. W. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 61. str. 905—908, 1948.
42. Kedrowsky B. W. — Usp. Sowr. Biol. Vol. 31, str. 31—56, 1951.
43. Kurkiewicz T. — Bull. Assoc. Anat. Varsovie, str. 252—255, 1931.
44. Lennette E. H. & Scharrer E. — Anat. Record. Vol. 94, str. 85—92, 1946.
45. Lasfargues E. & Di Fine J. — Bull. Histol. appliq. Vol. 27, str. 25—34, 1950.
46. Lasfargues E. & Di Fine J. — Anat. Record. Vol. 106, str. 29—32, 1950.
47. Lever J. — Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetenschappen. Vol. 50, str. 1365—1369, 1947.
48. Lever J. — Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetenschappen. Vol. 51, str. 1302—1309, 1948.
49. Lewyson L. B. & Platonowa C. N. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 58, str. 1769—1772, 1947.
50. Lewyson L. B. & Platonowa C. N. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 60, str. 120—132, 1948.
51. Lewynson L. B. & Utyna J. A. — Dokł. Akad. Nauk. S. S. S. R. Vol. 66, str. 269—272, 1949.
52. Lewynson L. B. & Kanarskaja Z. P. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 58, sr. 2067—2070, 1947.
53. Lewynson L. B. & Pawłowa M. N. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 69, str. 437—440, 1949.
54. Lewynson L. B. & Łagowa N. D. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 65, str. 547—550, 1949.
55. Nassonow D. — Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. Vol. 33, str. 472—502, 1926.
56. Nassonow D. — Arch. f. mikr. Anat. Vol. 100, str. 433—472, 1923.
57. Nassonow D. — Arch. f. mikr. Anat. Vol. 97, str. 136—186, 1923.

58. Palay S. L. — Journ. Comp. Neurol. Vol. 79, str. 247—275, 1943.
59. Pawlikowski T. — Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 120, str. 469, 1935.
60. Pawlikowski T. — Pozn. Tow. Przyj. Nauk. Vol. 5, str. 189-316, 1938.
61. Polenow A. L. — Dokł. Akad. Nauk. S.S.S.R. Vol. 73, str. 1025—1028, 1950.
62. Pollister A. W. & Leuchtenberger C. — Proc. Nat. Acad. Scien. Easton. Vol. 35, str. 66—71, 1949
63. Pollister A. W. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 81, str. 235—272, 1940.
64. Rau A. Subba & Ludford R. J. — Quart. Journ. Micr. Scien. Vol. 69. str. 509—517. 1928.
65. Scharrer E. & Scharrer B. — Physiol. Rev. Vol. 25, str. 171—181, 1945.
66. Scharrer E., Palay S. L. & Nilges R. G. — Anat. Record. Vol. 92, str. 23—31, 1945.
67. Sluiter J. W. — Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetenschappen. Amsterdam. Vol. 51, str. 353—357, 1948.
68. Sluiter J. W. — Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetenschappen. Amsterdam. Vol. 51, str. 503—512, 1948.
69. Sluiter J. W. — Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetenschappen. Amsterdam. Vol. 51, str. 627—633, 1948.
70. Thomas O. L. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 88, str. 445—462, 1947.
71. Thomas O. L. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 89, str. 333—350, 1948.
72. Thomas O. L. — Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 88. str. 269—273, 1947.

OBJAŚNIENIA DO MIKROFOTOGRAFII

Mikrofot. Nr 1. *Limnaea stagnalis* L. W cytoplaźmie komórek nerwowych zwoju mózgowego widoczne ziarenka (Z) i wodniczki (W) zabarwione przyżyciowo czerwienią obojętną. Ziarenka i wodniczki gromadzą się w stożku aksonowym komórki. Komórki izolowane po 30 minutach. Filtr zielony. Powiększenie duże.

Mikrofot. Nr 2. *Limnaea stagnalis* L. Izolowana komórka zwoju mózgowego po przyżyciowym zabarwieniu błękitem metylenowym. 30 minut po zastrzyku. Duże nagromadzenie ziarenek (Z) i wodniczek (W) w strefie przyjądrowej, a przede wszystkim w stożku aksonowym (SA). Filtr zielony. Powiększenie duże.

РЕЗЮМЕ

Цитологические исследования были проведены над живыми и зафиксированными моторическими нейронами Hanströma в мозговых ганглиях *Limnaea u Planorbis*. Живые клетки после отизолирования их окрашивались триметил тионином по способу Lasfargues u Di Fine а также подкрашивались прижизненно, впрыскивая подкожно улиткам растворы нейтральной красной или метиленовой синьки. Для фиксирования мозговых ганглиев пользовались раствором Carnoy и нейтральным формалином 1 : 9. Микротомные препараты окрашивались по способу Massona, Wallarta, Houette u Mallory. Составные компоненты системы Гольджи вычернено ураново-серебряным способом Cajala. На основании наших наблюдений можно сказать, что:

1. Оценами быстроты и ценности продукционной функции нервной клетки являются: количество, величина, структура и расположение зерен и нейросекреционных вакуолей, а также зерен и сфероидальных комплексов Гольджи-Томаса, причем замечено не только метаболизм нейросекреционных зерен, но также метаплазйю этих зерен в элементы Гольджи'его.

2. Величина функциональной зоны является показателем выделительной стоимости клетки, а также указателем динамизма происходящих изменений в ядерно-цитоплазматической зоне Гольджи'его.

3. Расположение и величина занимаемой поверхности зернами и сфероидальными тельцами Гольджи-Томаса, соответствует расположению и величине функциональной зоны выкрытой триметил тионином.

4. Точная топографическая и морфологическая связь элементов Гольджи'его с нейросекреционными элементамми и функциональной зоной цитоплазмы, указывала, что элементы эти не только образуют функциональные поля, но следует также предполагать, что они являются продуктом этого поля. Следовательно, функциональное поле может быть одновременно принято за динамическую зону цитоплазмы, в которой происходят все процессы синтеза и продукции. Величина динамической зоны, как отмечено, была зависима от фазы работы клетки.

ОБЪЯСНЕНИЕ КАРТИН

Микрофот. 1. *Limnaea Stagnalis* L.

В цитоплазме нервных клеток мозгового ганглия видны зерна (Z) и (W) окрашены прижизненно нейтральною краскою. Зерна и вакуоли скопляются в аксоновом конусе клетки. Клетки изолировано по истечении 30 минут Зеленый фильтр. Большое увеличение.

Микрофот. 2. *Limnaea Stagnalis* L.

Изолированная клетка мозгового ганглия после прижизненнойокраски метилевой синькой. 30 минут после укола. Большое скопление зерен (Z) и вакуолей (W в приядерной зоне, а прежде всего в аксоновом конусе (SA) Фильтр зеленый. Большое увеличение.

SUMMARY

Cytological investigations were conducted on living and fixed Hanström's motor neurons in the cerebral ganglia of Limnaea and Planorbis. The living cells after the isolation were stained with thionin threemethylene according to Lasfargues and Di Fine and also supravitally by injecting the snails subcutaneously with neutral red or methylene blue. To fix the cerebral ganglia Carnov's fluid and neutral formol 1:9 were used. Microtomic slides were stained according to Masson, Wallart, Houette and Mallory's methods. The Golgi system elements were dark stained according to Cajal's uran silver method.

On the basis of our observations it can be concluded:

1) The expressions of the rate and value of the productive activities of the nerve cells are the number, size, structure and the localization of granules and neurosecretory vacuoles, granules and Golgi—Thomas' spheroidal complexes, whereby not only the metabolism of the neurosecretory granules was observed, but also the metaplasia of these granules into Golgi elements.

2) The size of dynamic area is an index of the cell's secretory value and an indicator of the dynamism of the metabolism, taking place in the nucleo-cytoplasmatic Golgi zone.

3) The localization and the size of the area (surface), occupied by the granules and Golgi—Thomas spheroidal corpuscles corresponded to the localization and the size of the dynamic zone, demonstrated by thionin threemethylene.

4) The close topographic and morphologic union of the Golgi elements and neurosecretory elements with the dynamic area of the cytoplasm indicated that these elements not only form the dynamic area, but most probably are even the product of this area. The dynamic area, therefore, may be simultaneously regarded as the dynamic zone of the cytoplasm, in which the processes of synthesis and production take place. The size of the dynamic zone, as has been observed, was dependent on the phase of the cell's work.

EXPLANATIONS TO THE MICROPHOTOGRAPHS

Microphotograph No. 1. *Limnaea stagnalis* L. In the cytoplasm of nerve cells of the cerebral ganglion there can be seen granules (Z) and vacuoles (W) supravitally stained with neutral red. The granules and vacuoles are accumulated in the axonal hillock of the cell. Isolated cells after 30 minutes. Green filter. High power.

Microphotograph No. 2. *Limnaea stagnalis* L. An isolated cell of the cerebral ganglion supravitally stained with methylene blue 30 minutes after the injection. A large accumulation of granules (Z) and vacuoles (W) in the paranuclear zone, and particularly in the axonal hillock (SA). Green filter. High power.

Papier druk. sat. III kl. 70 g. Format 70 x 100 Ark. druku 1 i 3 str.
Annales U.M.C.S. Lublin 1952 Lub. Drukarnia Prasowa, Lublin, ul. Kościuszki 4, Zam. Nr 400, 29.II.52
1200 egz. A-3-10597. Data otrzymania manuskryptu 29.II.52. Data ukończenia druku 18.IV.52.